

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-019868

(43)Date of publication of application : 23.01.1998

(51)Int.Cl.

G01N 30/86  
 G01N 27/62  
 G01N 30/72  
 G01N 30/78  
 H01J 49/04  
 H01J 49/26

(21)Application number : 08-178770

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 09.07.1996

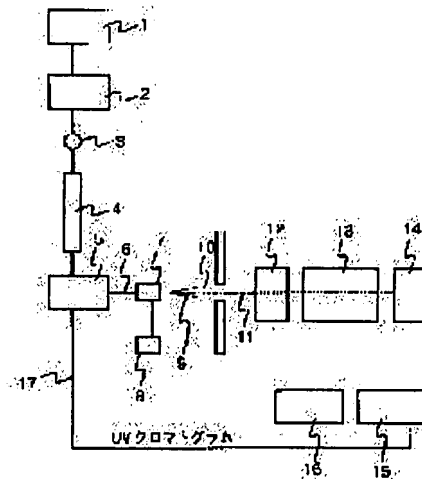
(72)Inventor : KATO YOSHIKI  
 MIMURA TADAO

## (54) METHOD AND APPARATUS FOR LIQUID CHROMATOGRAPH DIRECT-COUPLED MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a method and an apparatus by which a mistake or a misunderstanding is prevented regarding the mutual relationship between a liquid chromatogram and an ion chromatogram.

SOLUTION: An elution liquid 1 is sent to an analytical column 4, and a sample solution is introduced from a sample injection port 3 so as to be separated into respective components by the analytical column 4. The separated components are eluted from the analytical column 4, they are detected by an eluate component detector 5, its detection result is given to a data processor 15, and a peak is given on a liquid chromatogram. The sample components which go out from the eluate component detector 5 are sent to an ion source part via a capillary pipe 6 so as to be ionized by the ion source part. Generated ions are mass-spectrometrically analyzed by a mass spectrometric analysis part 13 so as to be detected by an ion detector 14, ions in an obtained mass spectrum are integrated, and a peak is given on an ion chromatogram. The time deviation between both chromatograms is measured in advance by a known (standard) sample so as to be added to the time base of the liquid chromatogram.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 25.09.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3235775

[Date of registration] 28.09.2001

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-19868

(43)公開日 平成10年(1998)1月23日

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I	
G01N 30/86		G01N 30/86	D
27/62		27/62	X
			F
30/72		30/72	C
30/78		30/78	
審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全6頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願平8-178770	(71)出願人	000005108 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地
(22)出願日	平成8年(1996)7月9日	(72)発明者	加藤 義昭 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株 式会社日立製作所計測器事業部内
		(72)発明者	三村 忠男 茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株 式会社日立製作所計測器事業部内
		(74)代理人	弁理士 高田 幸彦 (外1名)

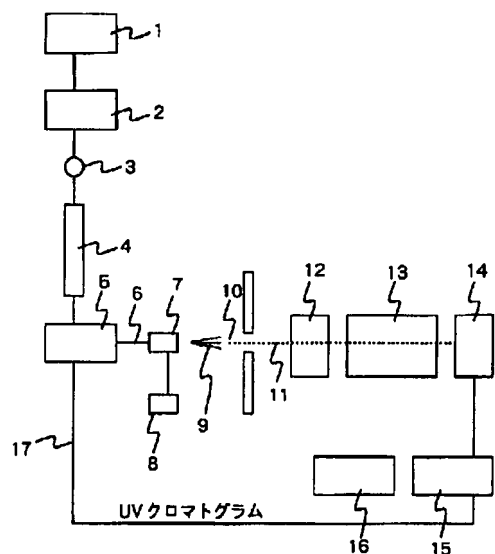
(54)【発明の名称】液体クロマトグラフ直結質量分析方法及び装置

(57)【要約】

【課題】液体クロマトグラフとイオンクロマトグラフの相互関連についての誤認又は誤解を防止すること。

【解決手段】溶離液1は分析カラム4に送られ、試料溶液は試料注入口3から導入され、分析カラム4により成分ごとに分離される。分離された成分は分析カラム4から溶出し、溶出成分検出器5で検出され、その検出結果がデータ処理装置15に与えられ、液体クロマトグラム上にピークを与える。溶出成分検出器5を出た試料成分はキャピラリパイプ6を経てイオン源部に送られ、イオン源でイオン化される。生成されたイオンは質量分析部13で質量分析され、イオン検出器14で検出され、得られるマススペクトル中のイオンを積算してイオンクロマトグラム上にピークを与える。両クロマトグラム間の時間ずれは予め既知(標準)試料で測定し、液体クロマトグラムの時間軸に加算する。

図 1



1…移動相 2…ポンプ 3…試料注入口 4…カラム  
5…溶出成分検出器 7…ESIプローブ 13…質量分析部  
14…イオン検出器 15…データ処理装置 16…CRT

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】液体クロマトグラフの分析カラムから溶出される試料成分を溶出成分検出器により検出してその液体クロマトグラムを生成すると共に、前記溶出された試料成分をイオン化しそれによって生成されたイオンを質量分析してイオン検出器により検出し、その全イオンクロマトグラムを生成する液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記液体クロマトグラムと前記全イオンクロマトグラムとを同一画面上に表示し、かつ前記液体クロマトグラムをその時間軸に該液体クロマトグラムと前記全イオンクロマトグラムとの間の時間ずれを加算して表示することを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項2】請求項1に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記分析カラムと前記溶出成分検出器との間において前記溶出成分検出器及び前記イオン検出器の両方によって検出され得る標準試料を導入し、前記溶出成分検出器及び前記イオン検出器が前記標準試料をそれぞれ検出する時間の差をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項3】請求項1に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記分析カラムと前記溶出成分検出器との間において前記イオン検出器によって検出され得る標準試料を導入し、その導入から前記イオン検出器によって前記標準試料が検出されるまでの時間をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項4】請求項1に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記溶出成分検出器の直後において前記イオン検出器によって検出され得る標準試料を導入し、その導入から前記イオン検出器によって前記標準試料が検出されるまでの時間をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項5】請求項2～4のいずれかに記載された液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、標準試料の導入を自動的に行うことを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項6】請求項2～5のいずれかに記載された液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記標準試料の導入を、前記試料成分が前記溶出成分検出器によって検出されるまでの間に行うことを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析方法。

【請求項7】液体クロマトグラフの分析カラムから溶出される試料成分を溶出成分検出器により検出してその液体クロマトグラムを生成すると共に、前記溶出された試料成分をイオン化しそれによって生成されたイオンを質量分析してイオン検出器により検出し、その全イオンクロマトグラムを生成する液体クロマトグラフ直結質量分

析装置において、前記液体クロマトグラムと前記全イオンクロマトグラムとを同一画面上に表示する手段を備え、該手段は前記液体クロマトグラムをその時間軸に該液体クロマトグラムと前記全イオンクロマトグラムとの間の時間ずれを加算して表示することを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

【請求項8】請求項7に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析装置において、前記分析カラムと前記溶出成分検出器との間に設けられた試料注入口と、該試料注入口から導入された、前記溶出成分検出器及び前記イオン検出器の両方によって検出され得る標準試料が前記溶出成分検出器及び前記イオン検出器によってそれぞれ検出される時間の差を求める手段を備え、その時間差をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

【請求項9】請求項7に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析装置において、前記分析カラムと前記溶出成分検出器との間に設けられた試料注入口と、該試料注入口から前記イオン検出器によって検出され得る標準試料が導入された時点から、該標準試料が前記イオン検出器によって検出されるまでの時間を求める手段とを備え、その時間をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

【請求項10】請求項7に記載された液体クロマトグラフ直結質量分析装置において、前記溶出成分検出器の直後に設けられた試料注入口と、該試料注入口から前記イオン検出器によって検出され得る標準試料が導入された時点から、該標準試料が前記イオン検出器によって検出されるまでの時間を求める手段とを備え、その時間をもって前記時間ずれとすることを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

【請求項11】請求項8～10のいずれかに記載された液体クロマトグラフ直結質量分析装置において、前記試料注入口から前記標準試料を自動的に導入する手段を有することを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

【請求項12】請求項8～11のいずれかに記載された液体クロマトグラフ直結質量分析装置において、前記標準試料の導入を、前記試料成分が前記溶出成分検出器によって検出されるまでの間に行うことを特徴とする液体クロマトグラフ直結質量分析装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は液体クロマトグラフ直結質量分析法および装置、特に液体クロマトグラムと全イオンクロマトグラム(Total Ion Chromatogram = TIC)を同一画面上に表示する液体クロマトグラフ直結質量分析方法および装置に関する。

## 【0002】

【従来の技術】液体クロマトグラフ直結質量分析法

は難揮発性の有機化合物や熱不安定性の有機化合物の有  
力な分析手法として近年広く普及してきている。

【0003】液体クロマトグラフは充填剤で充たされた  
分析用のカラムの中に液体に溶解した試料を導入し、こ  
れに移動相となる溶媒を流すことにより、試料、カラム  
充填剤、移動相の相互作用により試料成分を相互に分  
離、検出するものである。分離された成分の検出法は種  
々あるが、その中で紫外線吸収スペクトルを利用した検  
出器（UV検出器）が広く用いられている。さらに、デ  
ータ処理器でCRTやチャート上に液体クロマトグラム  
として表示される。UV検出器は高感度な検出器ではあ  
るが、UV検出器から得られるUVスペクトルは測定成  
分に対する構造情報を必ずしも十分には持っていない。  
そのため、溶出する成分のより高度な構造情報を得るた  
め質量分析計が液体クロマトグラフと直結された。

【0004】質量分析計は導入された成分を先ずイオン  
化しマススペクトルを与える。このマススペクトルから  
分子量、構造情報などが得られる。また特定の質量範囲  
のイオン量を積算することにより液体クロマトグラムと  
別の新たなクロマトグラムが得られる。これは全イオン  
クロマトグラム（TIC= Total Ion Chromatogram）と  
呼ばれている。TICは、イオン化できかつ検出できた  
成分の情報を有するクロマトグラムである。そのためマ  
ススペクトルと一対一の対応が取れる。液体クロマトグ  
ラフ直結質量分析装置（LC/MS）では、TICがマ  
ススペクトルと直接対応することから広く用いられてき  
た。最近LC/MSの普及と共に、TICが通常の液体  
クロマトグラムと対比、比較することが要求されるよう  
になってきた。そのため、一般に最も普及しているLC  
の検出器であるUV検出器と質量分析計からのTIC信  
号を同時に測定し、この2つのクロマトグラムを同一画  
面上に表示し、比較することが広く行われるようになって  
きた。これについては特開平4-132153に詳細が  
開示されている。

【0005】液体クロマトグラフと質量分析装置の直結  
法については種々の方式が提案されている。図6に従い  
従来技術を説明する。液体クロマトグラフ直結質量分  
析装置のイオン源には種々の方式があるが、図6には、イ  
オン化法として大気圧イオン化の一つであるエレクトロ  
スプレイ法（ESI= Electrospray）を用いたLC/M  
Sの模式図を示す。

【0006】移動相（溶離液）1はポンプ2により試料  
注入口3を経て分析カラム4に送られる。分析カラム4  
から溶出された移動相はUV検出器（溶出成分検出器）  
5に入り、さらに連結用のキャピラリーパイプ6を経てE  
SIイオン源に導入される。溶液は高電圧が印加された  
キャピラリーパイプの先端部7から大気中に電荷を持っ  
た液滴として放出される。この液滴は大気中の分子と衝  
突をくり返し、気化を行い、液滴は微細化される。最終  
的に液滴から試料のイオンが大気中に放出される。この

イオン流11を細孔10から真空中に保たれた質量分析部  
13に取り込み、質量分析され、イオン検出器14で検  
出される。データは次にデータ処理装置15で処理さ  
れ、マススペクトルやTICとしてCRT16上に出力  
される。移動相及び試料成分は上述の如くUV検出器5  
を経てキャピラリーパイプ6を通り、イオン源に導かれ  
る。ここで、UV検出器5及びキャピラリーパイプ6の  
死容積（デッドボリューム）があるために大きな問題が  
発生する。

10 【0007】移動相の流速は分析カラムの内径が3mm  
以上の場合、1ml/分程度に設定される。しかし、こ  
れでは1日に消費する移動相の量が約500mlになる  
ことになる。メタノールやアセトニトリルなどを移動相  
として用いると、これらの有毒で危険な溶媒を大量に消  
費し、最終的に環境に拡散することを意味する。そのた  
め、分析カラムの径を2mmとか1mm程度に小さく  
し、移動相の流量を100μl/分程度にし、有害な溶媒  
の消費量を1桁下げる（一日の消費量を50ml程度に  
する）ことが多くなってきた。

20 【0008】

【発明が解決しようとする課題】一般に用いられている  
UV検出器のデッドボリュームは10μl程度である。  
キャピラリーカラム6はその内径が0.1mm、長さが1  
m程度のものが用いられる。この場合、キャピラリーカ  
ラムのデッドボリュームは0.00785mlとなる。い  
ま、100μl/minの流速の移動相がこの空間を通  
過する時間は $(10+7.85)/100=0.1785$   
分=10.71秒となる。これはUV検出器5で検出し  
た後、キャピラリーパイプ6を通り、約10秒後に質量分  
析計に試料が到着することを意味する。これではUVク  
ロマトグラムとTICとの間には約10秒の時間差が生  
じることになる。この時間差（遅れ）の他に、UVク  
ロマトグラムとTICとの検出原理がまったく異なること  
から両クロマトグラムの比較は更に複雑になる。例えば  
図7に示すようにaのピークのようにある成分が上段の  
UVクロマトグラム上に巨大な成分として出現しても、  
これを質量分析装置のイオン源がイオン化できなければ  
何の信号も下段のTIC上に示さない。小さな成分b、  
cがUVクロマトグラム上に連続して出現しても、質量  
分析装置のイオン源は各々の成分に対して異なったイ  
オン化効率でイオン化することがある。UVクロマトグ  
ラム上は小さな成分cも大きなTICピークeを示すこと  
がある。また、UVクロマトグラム上に2つの成分が連  
続して出現しても、TICは一つの場合、どの成分がイ  
オン化されたか直感的に判断できない。UVクロマトグ  
ラム上に巨大な吸収を示す成分が出現してもこれをイ  
オン化せず、この巨大なピークの裾に乗った微小なピ  
ークをイオン化した場合、UVクロマト上の巨大ピーク  
がイオン化されたと誤認してしまう。このようにクロマ  
トグラムのずれは大きな誤解、誤認を招きやすい。

【0009】この両クロマトグラムの遅れを無くすには、UV検出器やキャピラパイプのデッドボリュームを小さくすることが最良の方法である。しかし、それには限度がある。UV検出器の容積を小さくすればするほどUV検出器の感度は損なわれる。そのため、UV検出器の容積は $10\mu\text{l}$ から $5\mu\text{l}$ が限度である。また、キャピラパイプの内径を小さくすればするほど詰まりの問題が起きる。詰まりのため度々分析を中断し、キャピラパイプの交換が必要となる。内径を小さくせず、長さを短くすることもできる。しかし、ESIのイオン化の場合、キャピラリの出口7に3-4kVの高電圧を印加する。キャピラリに導電性の液体(酸や塩を含む水溶液等)を流す場合、この溶液を通したリークが起き、キャピラリ先端7の電位が保てなくなり、安定なイオン化が不可能になる。そのため、内径0.1mm長さ1m程度のキャピラパイプが広く用いられる。このため、UVクロマトグラムとTICのずれは依然問題として残ったままである。

【0010】本発明の目的は液体クロマトグラムとイオンクロマトグラムとを同一画面上で比較、検討するに当たって、両クロマトグラムの相互関連についての誤認又は誤解を防止するのに適した液体クロマトグラフ直結質量分析方法及び装置を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明は、液体クロマトグラフの分析カラムから溶出される試料成分を溶出成分検出器により検出してその液体クロマトグラムを生成すると共に、前記溶出された試料成分をイオン化しそれによって生成されたイオンを質量分析してイオン検出器により検出し、その全イオンクロマトグラムを生成する液体クロマトグラフ直結質量分析方法において、前記液体クロマトグラムと前記全イオンクロマトグラムとを同一画面上に表示し、かつ前記液体クロマトグラムをその時間軸に該液体クロマトグラと前記全イオンクロマトグラムとの間の時間ずれを加算して表示する点に特徴がある。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明の一実施例に基づく構成図を図1に示す。移動相としての溶離液1はポンプ2により送り出され、試料注入入口3を経て分析カラム4に送り込まれる。試料溶液は試料注入入口3から導入され、分析カラム4により成分ごとに分離される。分離された成分は移動相とともに分析カラム4から溶出し、UV検出器(溶出成分検出器)5に入る。ここでUV吸収を示す成分は検出され、その検出結果がUVクロマトグラフ信号線17を通してデータ処理装置15に与えられ、UVクロマトグラム(液体クロマトグラム)上にピークを与える。UV検出器5を出た試料成分及び移動相はキャピラパイプ6を経てイオン源部に送られる。イオン源がエレクトロスプレーイオン化(ESI)の場合、キャピラ

リーパイプの先端7に高圧電源8から供給される高電圧Vにより試料溶液は大気中に微細な帯電した液滴9として放出される。微細な液滴は大気分子と衝突をくり返し、溶媒分子が気化される。これにより液滴は更に微細化され、最終的にイオンが大気中に放出される。このイオン11を細孔10からサンプリングし、イオン移送部12を経て、質量分析部13によりイオンの質量分析を行い、イオン検出器14で検出する。さらに、データはデータ処理装置15により処理され、マススペクトルを与える。このマススペクトル中のイオン電流を積算し、時間軸上にイオン量をプロットしたものがイオンクロマトグラム(TIC)である。

【0013】UVクロマトグラムとTICはデータ処理装置15により収集され、クロマトグラムとしてCRT16上に出力される。図2に示すように、予め計測されたUVクロマトグラムとTICの時間ずれtをUVクロマトグラムの横軸に加算して表示する。これによりUVクロマト上の成分b、cとTIC上の同一成分d、eが見掛け上同一時間に表示され、同一の成分であることが一目で判断できるようになる。

【0014】UVクロマトグラムとTICの時間ずれは予め既知(標準)試料で測定し、データ処理装置に記憶させておいてもよい。さらに、図2のUVクロマトグラム上の成分bとTIC上の成分dが同一の成分であることがあらかじめわかる場合、CRT上のカーソル等により同一成分であることを指示し、時間差を求めることもできる。

【0015】図3に本発明の別の一実施例を構成図で示す。図1と同じ要素は省略してある。分析カラム4とUV検出器5の間に試料注入入口31を設ける。移動相1をポンプ2により系全体に供給している。分析の試料はまだ試料注入入口3に導入されていない。ここで、試料注入入口31から、UV検出器5で検出できかつ質量分析計でも検出できる標準試料(例えば、酢酸アンモニウム、クマリンなど)溶液を注入する。UV検出器5は直ちに注入された成分を検出する。その後、ある時間t後に質量分析計は成分を検出する。このtがUVクロマトグラムとTICとの時間ずれとしてデータ処理装置に記録される。この後、実際の測定の際に、時間tがUVクロマトグラムの時間軸に加算され、CRTやチャート上に表示される。

【0016】この類似の手法を図4に示す。標準試料の注入時に注入の信号を直接試料注入入口32から試料注入信号線18を通してデータ処理装置15に送ると、この時点から標準試料がイオン検出器14によって検出されるまでの時間tをデータ処理装置15で求めれば、これを両クロマトグラム間の時間ずれtとすることができ、これによれば、UV検出を省略することもできる。この場合、使用する標準試料はイオン源にてイオン化されるものであればよく、UVの吸収の有無を考慮する必

要はない。試料注入口 3 2 は UV 検出器 5 の前または直後でもよい。

【0017】図 5 に本発明の別の実施例を示す。クロマトグラム間のずれ  $t$  を測定するため、分析を中断するのでは効率が悪い。実際の LC 分析の場合、分析がスタートしてからある時間だけ試料成分が絶対出現しない時間が存在する。この時間を利用してずれ  $t$  の測定を行えば無駄な時間を消費しない。この試料が出現しない時間は試料を注入した後、分析カラムにまったく保持されない成分が出現するまでの非保持時間がそれにあたる。内径 1 mm、長さ 30 cm の分析カラムに  $100 \mu\text{l}/\text{min}$  の流量で移動相を流したとき、約 2.4 分の間は試料成分が溶出しない。この時間の間に試料注入口 3 1 から標準試料溶液を注入し、ずれ  $t$  を計測する。 $t$  は 10 秒程度であるから、2 分の非保持時間内に十分測定可能である。

【0018】以上により、UV クロマトグラムと TIC の時間ずれを測定者は意識せずに、UV クロマトグラム上のピークが TIC 上のピークと対応することが容易に判断できる。そのためピークの誤認、取り違えを未然に防ぐことができる。また、簡単な注入口を分析カラムの後段に設けることにより、時間ずれをいつでも測定できる。この測定をカラムの非保持時間内に行えば、時間ずれの正確な測定と分析時間の損失をなくすることができる。

【0019】

【発明の効果】本発明によれば、液体クロマトグラムとイオンクロマトグラムとを同一画面上で比較、検討す

るに当たって、両クロマトグラムの相互関連についての誤認又は誤解を防止するのに適した液体クロマトグラフ直結質量分析方法及び装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明の一実施例を示す液体クロマトグラフ直結質量分析装置の構成図である。

【図 2】本発明にもとづく液体クロマトグラムと TIC との関係を示す図である。

【図 3】本発明のもとづくもう一つの実施例を示す液体クロマトグラフ直結質量分析装置の要部の構成図である。

【図 4】本発明にもとづく別の実施例を示す液体クロマトグラフ直結質量分析装置の構成図である。

【図 5】本発明にもとづく液体クロマトグラムと TIC とのもう一つの間係を示す図である。

【図 6】従来の実施例を示す液体クロマトグラフ直結質量分析装置の構成図である。

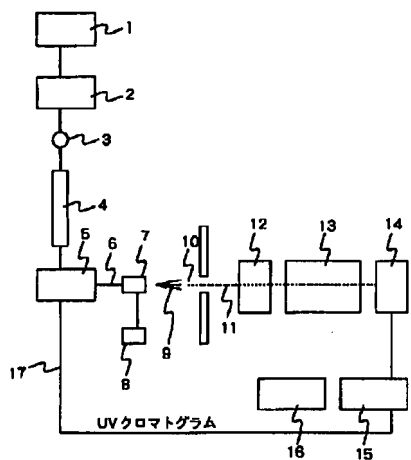
【図 7】従来の実施例による、液体クロマトグラムと TIC との間係を示す図である。

【符号の説明】

1：移動相（溶離液）、2：ポンプ、3：試料注入口、4：分析カラム、3 1、3 2：標準試料注入口、5：UV 検出器（溶出成分検出器）、6：キャピラリパイプ、7：ESI プローブ、8：高圧電源、9：帯電液滴、10：細孔、11：イオン流、12：イオン移送系、13：質量分析部、14：イオン検出器、15：データ処理器、16：CRT、17：UV クロマトグラム信号線、18：試料注入信号線。

【図 1】

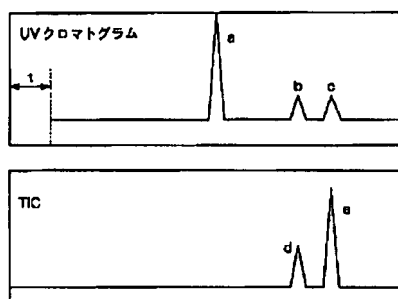
図 1



1…移動相 2…ポンプ 3…試料注入口 4…カラム  
5…溶出成分検出器 7…ESIプローブ 13…質量分析部  
14…イオン検出器 15…データ処理装置 16…CRT

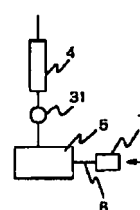
【図 2】

図 2



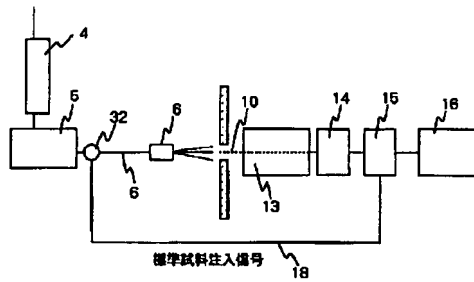
【図 3】

図 3



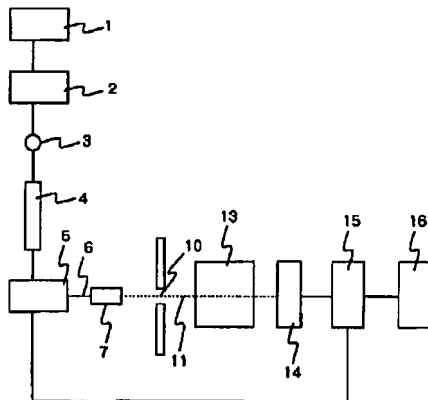
【図4】

図 4



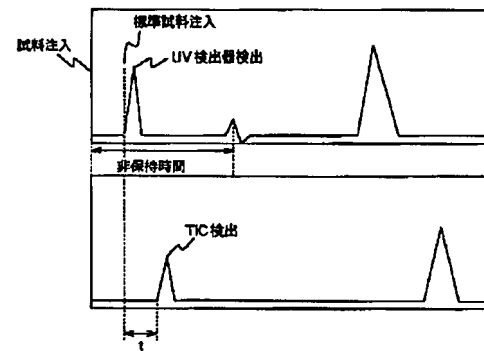
【図6】

図 6



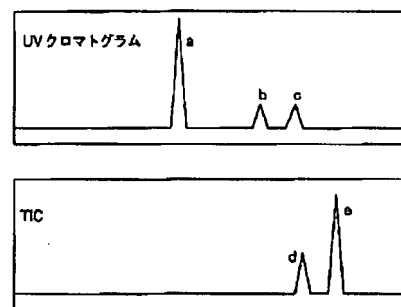
【図5】

図 5



【図7】

図 7



フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>6</sup>

H 0 1 J 49/04

49/26

識別記号

庁内整理番号

F I

H 0 1 J 49/04

49/26

技術表示箇所